

(Direktor: Professor Dr. F. O. Höring)

Vergleichende Untersuchungen
über die
Temperaturabhängigkeit von Aktivitäten
einiger Serumenzyme
(SGOT, SGPT, alkalische Phosphatase)
sowie der 1, 6-Diphospho-Fruct-Aldolase
im Liquor cerebrospinalis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt

von

Dietrich-Eckard Leder

aus Berlin

9204

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus dem Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus Berlin
(Direktor: Professor Dr. F. O. Höring)

Vergleichende Untersuchungen
über die
Temperaturabhängigkeit von Aktivitäten
einiger Serumenzyme
(SGOT, SGPT, alkalische Phosphatase)
sowie der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase
im Liquor cerebrospinalis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt
von
Dietrich-Eckard Leder
aus Berlin

Dekan: Professor Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter: Dozent Dr. H.-F. von Oldershausen
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. E. Bock

Tag der mündlichen Prüfung: 30.8.1967

Meiner Mutter

I n h a l t

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	1 - 2
B. Eigene Untersuchungen	3 - 34
1. Methodische Bemerkungen	3 - 7
2. Untersuchungsgut und statistische Auswertung	8 - 9
3. Ergebnisse der Bestimmungen von Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT)	10 - 16
4. Ergebnisse der Bestimmungen von Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT)	17 - 23
5. Ergebnisse der Bestimmungen von alkalischer Phosphatase im Serum	24 - 26
6. Ergebnisse der Bestimmungen von 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis	27 - 30
7. Graphische Darstellung der Ergebnisse	31 - 34
C. Erörterung der Befunde	35 - 38
D. Zusammenfassung	39
E. Literaturverzeichnis	40 - 46



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153519_0147

A. Einleitung und Fragestellung

In den letzten Jahren ist auf Grund einer großen Zahl von Untersuchungen über das Verhalten der Enzymaktivitäten bei den verschiedensten Erkrankungen sowie über mannigfache Eigenschaften der Enzyme selbst berichtet worden. Nur wenige Autoren beschäftigten sich mit den Faktoren, die außerhalb des Körpers zu einer Beeinflussung der Enzymaktivitäten führen. An erster Stelle unter diesen exogenen Faktoren ist das Temperaturoptimum zu nennen.

Nach der van t'Hoff'schen Regel über die Beziehungen zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Temperatur führt eine Steigerung der Temperatur um 10°C zu einer Verdoppelung der Geschwindigkeit biochemischer Reaktionen. Diese Regel gilt auch für das Verhalten von Enzymaktivitäten (RICHTERICH 1958). Wird das Temperaturoptimum eines Enzyms überschritten, so kann es zur Hitze-Inaktivierung durch Denaturierung kommen.

Die einzelnen Enzyme verhalten sich in dieser Hinsicht recht verschieden. Sogar die verschiedenen Fraktionen eines Enzyms können eine voneinander deutlich abweichende Hitzeresistenz aufweisen, wie etwa die verschiedenen Isoenzyme der alkalischen Phosphatase. POSEN et al. fanden 1965, daß die alkalische Phosphatase im Serum Leber-Gallenkranker nach $1/4$ -stündiger Hitzeeinaktivierung bei 56°C etwa 40 % ihrer ursprünglichen Aktivität behält, im Normalserum 25 % und im Serum von Patienten mit Knochenerkrankungen nur etwa 10 - 15 %. Wir haben für unsere Untersuchungen mit der alkalischen Phosphatase nur Serum von Gesunden und Patienten mit Leber-Gallenerkrankungen verwendet.

RICHTERICH kam bei seinen Untersuchungen (1965) zu dem Ergebnis, daß die alkalische Phosphatase mehrere Monate ohne Aktivitätseinbuße gefroren aufbewahrt werden könne. WALFORD et al. (1956) haben tiefgefrorenes Plasma

nach einem Zeitintervall von 6 Monaten auf verschiedene Komponenten untersucht. Unter anderem kam es bei der alkalischen Phosphatase zu signifikanten Veränderungen. GOMORI (1954) berichtet, daß die alkalische Phosphatase bis zu 7 Tagen stabil sei.

Nach KARMEN, WROBLEWSKI und LA DUE (1954) verlieren die Transaminasen bei Zimmertemperatur innerhalb von 96 Stunden überhaupt keine Aktivität, im Kühlschrank ($0 - 5^{\circ}\text{C}$) soll diese voll bis zu zwei Wochen bestehen bleiben.

Nach den Feststellungen von SUEDHOF und WOETZEL (1960) soll es beim Aufbewahren von Serumproben über 48 Stunden auch bei tieferen Temperaturen zu erheblichen Aktivitätsverlusten der Enzyme kommen.

Anderweitige eingehendere Untersuchungen über die Temperaturabhängigkeit von Aktivitäten verschiedener Serumenzyme sind uns nicht bekannt.

Die Unstimmigkeiten in den Angaben über den Temperatureinfluß auf die Aktivität der Enzyme veranlaßten uns, noch einmal die Frage der Temperaturabhängigkeit einiger Enzyme zu überprüfen. Aus der Vielzahl der Enzyme wurden die Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT) und Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) sowie die alkalische Phosphatase im Serum ausgewählt.

Diese Beschränkung ermöglichte größere Versuchsreihen als die von SUEDHOF und WOETZEL vorgenommenen Untersuchungen. Außerdem wurden die Aktivitäten der 1, 6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis bei 3°C über 14 Tage bestimmt. Hierüber liegen bisher keine Untersuchungsergebnisse vor.

B. Eigene Untersuchungen

1. Methodische Bemerkungen

Das Verhalten der Aktivität wurde bei den Transaminasen und der alkalischen Phosphatase über 1 Woche verfolgt, bei der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis über 2 Wochen.

Die Enzymaktivitätsbestimmungen erfolgten nach dem Prinzip des "optischen Tests" von Warburg. Grundlage dieser Bestimmung ist die Einbeziehung des reduzierten Coenzyms DPNH in die enzymatischen Umsetzungen. Diese Verbindung hat ein Absorptionsmaximum bei 340 m μ . Der Übergang des DPNH in die oxydierte Form (DPN), die zwischen 300 und 400 m μ keine Absorption zeigt, kann mit dem Photometer verfolgt werden. Gemessen wird der zeitliche Abfall der Extinktion.

Die Extinktionsmessungen erfolgten mit dem Photometer "Eppendorf" der Firma Netheler & Hinz GmbH Hamburg. Die Reagentien wurden den Testkombinationen der Firma C.F. Boehringer & Söhne GmbH Mannheim entnommen.

Die Messungen wurden in Doppelbestimmungen durchgeführt.

Das Serum wurde wie folgt gewonnen: 30 Minuten nach der Entnahme, die jeweils morgens nüchtern erfolgte, wurde das Blut bei 3000 U./Min. zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde dekantiert und erneut 10 Minuten mit der gleichen Geschwindigkeit zentrifugiert. Dann wurden für jeden Versuch 1,5 bis 2,5 ml Serum auf 16 Spitzröhrchen verteilt. Um der Zersetzung der Proben durch bakterielle Fermente vorzubeugen, wurden die Röhrchen vor der Benutzung 20 Minuten bei 180° C sterilisiert. Für die Reinigung wurde Chromschwefelsäure verwendet.

Noch bevor die erste Messung zur Festlegung des Ausgangswertes erfolgte, wurden 5 Röhrchen in die Tiefkühltruhe (- 24° C), 5 Röhrchen in den Kühlschrank (+ 3° C) verbracht. 5 Röhrchen verblieben bei

Zimmertemperatur, die im Durchschnitt $+ 20^{\circ} \text{C}$ betrug.

Die Aktivitätsmessungen erfolgten 3 Stunden (Ausgangswert) sowie 9, 24, 48, 72 Stunden und 1 Woche nach der Blutentnahme. Da für die Bestimmung der Aktivität der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase nur eine geringe Menge von Liquor cerebrospinalis zur Verfügung stand, konnte das Aktivitätsverhalten ausschließlich bei $+ 3^{\circ} \text{C}$ verfolgt werden. Hier wurde der Zeitraum der Beobachtung auf 2 Wochen vergrößert.

Zur Verminderung des Pipettenfehlers wurde mit "Sammelansätzen" (s.u.) gearbeitet. Im einzelnen wurde wie folgt vorgegangen:

- a) Bestimmung der Aktivität der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT) in Anlehnung an die Methode von KARMEN, WROBLEWSKI und LADUE (1955)

Reagentien:

1. Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4
2. Dinatriumhydrogenphosphat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
3. L-Asparaginat, Natriumsalz
4. α -Ketoglutarat, Natriumsalz
5. Reduziertes Diphosphopyridinnucleotid, DPNH
6. Malatdehydrogenase

Ausführung:

Der "Sammelansatz" für jeweils 10 Versuche besteht aus: 23,0 ml Phosphat/Asparaginat-Lösung, 0,5 ml DPNH und 0,5 ml Malatdehydrogenase. Für die einzelnen Versuche wurden von diesem Gemisch 2,4 ml in eine 10 mm-Küvette und dazu 0,5 ml des zu untersuchenden Serums pipettiert. Nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten bei 25°C wurden 0,1 ml α -Ketoglutarat-Lösung untermischt. Die Extinktion wurde 10 Minuten, jede Minute einmal, bei 366 m μ abgelesen.

Definition der Einheit:

Nach KARMEN, WROBLEWSKI und LADUE (1954) ist 1 Einheit die GOT-Menge in 1 ml Serum, die bei 25° C im 3 ml-Ansatz die DPNH-Extinktion bei 340 m/μ in 1 Minute um 0,001 ändert.

Berechnung:

Bei Verwendung von 0,5 ml Serum ergibt die in 1 Minute gemessene Extinktionsdifferenz (bei 340 m/μ) multipliziert mit 2000 GOT-Einheiten. Da bei 366 m/μ gemessen wurde, muß das Ergebnis mit 1,89 multipliziert werden.

Normalwerte:

10 - 40 Einheiten/ml Serum nach WROBLEWSKI.

- b) Bestimmung der Aktivität der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) in Anlehnung an die Methode von WROBLEWSKI und LADUE (1956)

Reagentien:

1. Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4
2. Dinatriumhydrogenphosphat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
3. D, L-Alanin
4. α-Ketoglutarat, Natriumsalz
5. Reduziertes Diphosphopyridinnucleotid, DPNH
6. Lactat-Dehydrogenase

Ausführung:

Der "Sammelansatz" (für 10 Versuche) besteht aus 18,0 ml Phosphat-Alanin-Lösung, 0,5 ml DPNH und 0,5 ml Lactat-Dehydrogenase. Für den Einzelversuch wurden 1,9 ml dieses Gemisches mit 1,0 ml Serum vermengt. Nach einer Inkubation von 15 Minuten bei 25° C wurden 0,1 ml

α -Ketoglutarat-Lösung dazupipettiert. Die Ablesung der Extinktion erfolgte bei 366 m/ μ 5 - 10 Minuten lang jede Minute.

Definition der Einheit:

Nach WROBLEWSKI und LADUE (1956) ist 1. Einheit die GPT-Menge in 1 ml Serum, die bei 23° C im 3 ml-Ansatz die DPNH-Extinktion bei 340 m/ μ in 1 Minute um 0,001 ändert.

Berechnung:

Die in 1 Minute gemessene Extinktionsdifferenz multipliziert mit 1000 ergibt GPT-Einheiten/ml Serum. Da bei 366 m/ μ gemessen wurde, mußte das Ergebnis mit 1,89 multipliziert werden.

Normalwerte:

5 - 35 Einheiten/ml Serum nach WROBLEWSKI.

- c) Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum nach den Angaben von BESSEY, LOWRY und BROCK (1946)

Reagentien:

1. Glycin
2. p-Nitrophenylphosphat-Natrium
3. Magnesiumchlorid

Ausführung:

Für jede Bestimmung wurde ein Leerwert angesetzt, bestehend aus 1,0 ml Puffer/Substrat (Lösung von p-Nitrophenylphosphat-Natrium in Glycinpuffer). Die Probe setzt sich aus 1,0 ml Puffer/Substrat und 0,1 ml Serum zusammen. Nach 30-minütiger Inkubation im Wasserbad von 37° C

wurden der Probe 10,0 ml 0,02 N NaOH, dem Leerwert 10,0 ml 0,02 N NaOH und 0,1 ml Serum zugegeben. Die Messung der Extinktionsdifferenz zwischen Probe und Leerwert erfolgte bei 405 m μ .

Definition der Einheit:

Nach BESSEY und LOWRY ist 1 Phosphatase-Einheit die in 1 Liter Serum enthaltene Enzymmenge, die in 1 Stunde bei 37° C 1 mMol = 140 mg p-Nitrophenol freisetzt.

Berechnung:

Die Extinktionsdifferenz multipliziert mit 12,0 ergibt mMol-Einheiten alkalische Phosphatase.

Normalwerte:

0,9 - 4,1 mMol-Einheiten (nach SUEDHOF et al. 1962).

- d) Bestimmung der Aktivität der 1,6 Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis nach den Angaben von BRUNS (1954)

Reagentien:

1. 2,4,6-Trimethylpyridin (Collidin), CLP
2. Monojodacetat, Natriumsalz
3. Fructose-1,6-diphosphat, Natriumsalz (FDP)
4. Reduziertes Diphosphopyridinnucleotid, DPNH
5. Glycerophosphat-Dehydrogenase/Triosephosphat-Isomerase, GDH/TIM

Ausführung:

Für jede Bestimmung wurde ein Leerwert mit 0,2 ml Serum und 2,8 ml physiologischer Kochsalzlösung angesetzt. Der "Sammelansatz" für 10 Bestimmungen bestand aus 27,5 ml CLP/FDP, 0,5 ml DPNH und 0,1 GDH/TIM. Für

eine einzelne Bestimmung wurden diesem Gemisch 2,81 ml entnommen und 0,2 ml Serum dazugegeben. Nach 5-minütiger Inkubation im Wasserbad bei 37° C erfolgte die erste Ablesung der Extinktionsdifferenz zwischen Probe und Leerwert bei 366 m μ . Nach weiteren 20 Minuten im Wasserbad erfolgte die zweite Ablesung. Die Differenz beider Ablesungen geht in die Berechnung ein.

Definition der Einheit:

Nach der "International Union of Biochemistry" (IUB) ist eine Einheit die Enzymmenge, die bei 25° C in 1 Minute 1 μ Mol Substrat umsetzt.

Berechnung:

Die bei 366 m μ gewonnene Extinktionsdifferenz wird mit 46,8 (IUB-Einheiten) und zur Umrechnung in Einheiten nach BRUNS mit 1,64 multipliziert.

Normalwerte:

3 - 8 Einheiten/ml nach BRUNS.

2. Untersuchungsgut und statistische Auswertung

Das Untersuchungsgut umfaßt 59 Serum- und 9 Liquorproben. Für die Bestimmung der Transaminasen wurden je 25 Proben verwendet. Davon stammten jeweils 9 Seren von gesunden Versuchspersonen und 16 von leberkranken Patienten des Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin. Die Zahl der Proben zur Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase setzt sich zusammen aus Seren von Patienten mit Verschlußikterus, Hepatitis und Lebercirrhose. 4 Proben wurden im Anfangsstadium einer Virushepatitis, 5 Proben während der Rekonvaleszens der Virushepatitis entnommen. Die Liquorproben stammten von

Patienten mit seröser und eitriger Meningitis. Aldolase ist im Liquor cerebrospinalis gesunder Personen nach ein-stündiger Inkubation bei 37° C nicht nachweisbar (BRUNS, JAKOB, WEVERINCK 1954).

Die Streubreite der Enzymaktivitätsbestimmungen

wurde durch die mittlere quadratische Abweichung vom Mittelwert ($S_{\bar{x}}$) ausgedrückt und nach folgender Formel berechnet (FREUDENBERG, 1963):

$$S_{\bar{x}} = \frac{\sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}}{\sqrt{n}}$$

Enzym	n	$S_{\bar{x}}$ in %
Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT)	25	1,18
Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT)	25	3,26
alkalische Phosphatase im Serum	9	2,13
1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis	9	0,68

Ergebnisse der Bestimmungen von Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT)

Im Folgenden werden die erhobenen Befunde bei Messung der Aktivität der SGOT in Abhängigkeit von der Dauer der Aufbewahrung unter verschiedenen Temperaturbedingungen angeführt. Die Zahlenwerte in den Spalten 2 und 4 bis 8 bedeuten GOT-Einheiten/ml Serum (nach WROBLEWSKI). Die Werte in den Klammern geben die verbleibende Enzymaktivität in % des Ausgangswertes an.

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				
			9	24	48	72	168= 1 Woche
1	19,80	+20° C	18,90 (95,40)	16,06 (81,10)	14,17 (71,50)	12,33 (62,20)	11,34 (57,20)
		+ 3° C	18,90 (95,40)	17,01 (85,90)	15,12 (76,30)	13,23 (66,80)	11,34 (57,20)
		-24° C	19,80 (100,0)	15,12 (76,30)	17,01 (85,90)	16,06 (81,10)	13,23 (66,80)
2	24,57	+20° C	22,68 (92,30)	21,73 (88,40)	20,79 (84,60)	17,01 (69,20)	15,12 (61,50)
		+ 3° C	23,62 (96,10)	24,57 (100,0)	22,68 (92,30)	20,79 (84,60)	18,90 (76,90)
		-24° C	23,62 (96,10)	22,68 (92,30)	23,62 (96,10)	18,90 (76,90)	17,01 (69,20)
3	20,79	+20° C	20,79 (100,0)	18,90 (90,90)	15,12 (72,70)	15,12 (72,70)	13,23 (63,60)
		+ 3° C	20,79 (100,0)	18,90 (90,90)	18,90 (90,90)	17,01 (81,80)	15,12 (72,70)
		-24° C	20,79 (100,0)	19,80 (95,20)	18,90 (90,90)	15,12 (72,70)	16,06 (77,20)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
4	18,90	+20° C	17,95	15,12	13,23	13,23	11,34
			(94,9)	(80,0)	(70,0)	(70,0)	(60,0)
		+ 3° C	17,01	15,12	17,95	15,12	12,28
			(90,0)	(80,0)	(94,9)	(80,0)	(64,9)
		-24° C	18,90	17,01	15,12	14,17	13,23
			(100,0)	(90,0)	(80,0)	(74,9)	(70,0)
5	15,12	+20° C	13,23	13,23	11,34	11,34	9,45
			(87,5)	(87,5)	(75,0)	(75,0)	(62,5)
		+ 3° C	15,12	13,23	12,27	12,27	11,34
			(100,0)	(87,5)	(81,1)	(81,1)	(75,0)
		-24° C	14,17	14,17	13,23	12,27	11,34
			(93,7)	(93,7)	(87,5)	(81,1)	(75,0)
6	11,34	+20° C	11,34	9,45	8,50	8,50	7,56
			(100,0)	(83,3)	(74,9)	(74,9)	(66,6)
		+ 3° C	10,40	10,40	10,40	9,45	8,50
			(91,7)	(91,7)	(91,7)	(83,3)	(74,9)
		-24° C	11,34	9,45	11,34	10,40	11,34
			(100,0)	(83,3)	(100,0)	(91,7)	(100,0)
7	13,23	+20° C	11,34	11,34	9,45	10,40	9,45
			(85,7)	(85,7)	(71,4)	(78,6)	(71,4)
		+ 3° C	11,34	10,40	10,40	11,34	10,40
			(85,7)	(78,6)	(78,6)	(85,7)	(78,6)
		-24° C	13,23	10,40	9,45	10,40	10,40
			(100,0)	(78,6)	(71,4)	(78,6)	(78,6)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
8	17,01	+20° C	16,06 (94,4)	15,12 (88,8)	13,23 (77,7)	12,27 (72,1)	11,34 (66,6)
		+ 3° C	15,12 (88,8)	15,12 (88,8)	13,23 (77,7)	12,27 (72,1)	10,40 (61,1)
		-24° C	16,06 (94,4)	15,12 (88,8)	15,12 (88,8)	13,23 (77,7)	12,27 (72,1)
9	41,58	+20° C	38,74 (93,1)	35,91 (85,8)	32,13 (77,2)	29,29 (70,4)	24,57 (59,0)
		+ 3° C	41,58 (100,0)	37,80 (90,9)	34,02 (81,8)	30,24 (72,7)	25,51 (61,3)
		-24° C	39,69 (95,4)	38,74 (93,1)	35,91 (85,8)	32,13 (77,2)	28,35 (68,1)
10	109,6	+20° C	98,28 (89,6)	88,83 (81,0)	90,72 (82,7)	77,49 (70,6)	64,26 (58,6)
		+ 3° C	100,2 (91,3)	92,61 (84,8)	90,72 (82,7)	83,16 (75,8)	66,15 (60,3)
		-24° C	103,9 (94,8)	94,50 (86,2)	83,16 (75,8)	79,38 (72,3)	63,31 (57,7)
11	192,8	+20° C	181,4 (94,1)	170,1 (88,2)	147,4 (76,4)	128,5 (66,6)	115,3 (59,8)
		+ 3° C	181,4 (94,1)	173,9 (90,1)	151,2 (78,4)	132,3 (68,6)	117,2 (60,7)
		-24° C	189,0 (98,0)	177,7 (92,1)	158,8 (82,3)	136,1 (70,5)	117,2 (60,7)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
12	90,72	+20° C	85,05	79,38	69,93	64,26	51,03
			(93,7)	(87,5)	(77,0)	(70,8)	(56,2)
		+ 3° C	86,94	81,27	73,71	66,15	54,81
			(95,8)	(89,5)	(81,2)	(72,9)	(60,4)
		-24° C	88,83	85,05	77,49	71,82	56,70
			(97,9)	(93,7)	(85,4)	(79,1)	(62,5)
13	128,5	+20° C	128,5	105,8	96,39	88,83	77,49
			(100,0)	(82,3)	(75,0)	(69,1)	(60,2)
		+ 3° C	126,6	109,6	100,2	88,83	79,38
			(90,7)	(85,2)	(77,9)	(69,1)	(61,7)
		-24° C	124,7	113,4	102,1	94,50	80,32
			(97,0)	(88,2)	(71,4)	(73,5)	(62,5)
14	283,5	+20° C	272,2	253,3	230,6	190,9	172,0
			(96,0)	(89,3)	(81,3)	(67,3)	(60,6)
		+ 3° C	283,5	260,8	238,1	204,1	179,6
			(100,0)	(92,0)	(84,0)	(72,0)	(63,3)
		-24° C	279,7	260,8	241,9	215,5	178,6
			(98,6)	(92,0)	(85,3)	(76,0)	(62,9)
15	173,9	+20° C	164,5	149,3	138,0	128,5	104,0
			(94,6)	(85,8)	(79,3)	(73,9)	(59,7)
		+ 3° C	170,1	153,1	143,6	130,4	104,9
			(97,8)	(88,0)	(82,6)	(75,0)	(60,3)
		-24° C	168,2	156,9	145,5	132,3	105,8
			(96,7)	(90,2)	(83,6)	(76,0)	(60,9)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
16	162,5	+20° C	156,9 (96,5)	139,9 (86,0)	138,0 (84,8)	122,9 (75,5)	98,28 (60,4)
		+ 3° C	156,9 (96,5)	149,3 (91,8)	143,6 (88,3)	128,5 (79,0)	102,1 (62,7)
		-24° C	158,8 (97,6)	151,2 (93,0)	149,3 (91,8)	132,3 (81,3)	103,0 (63,3)
17	124,7	+20° C	117,2 (93,6)	105,8 (84,8)	100,2 (80,3)	94,50 (75,7)	77,49 (62,1)
		+ 3° C	122,9 (98,4)	111,5 (89,3)	104,0 (83,3)	96,39 (77,3)	79,38 (63,6)
		-24° C	121,0 (96,9)	113,4 (90,9)	104,0 (83,3)	98,28 (78,8)	81,27 (65,1)
18	1360,8	+20° C	1323,0 (97,2)	1190,7 (87,9)	1096,2 (80,5)	982,8 (72,2)	831,6 (61,1)
		+ 3° C	1323,0 (97,2)	1209,6 (88,8)	1134,0 (83,8)	1001,7 (73,6)	850,5 (62,5)
		-24° C	1341,9 (98,6)	1228,5 (90,2)	1171,8 (86,1)	1020,6 (75,0)	850,5 (62,5)
19	982,8	+20° C	907,2 (92,3)	907,2 (92,3)	756,0 (76,9)	680,4 (69,2)	604,8 (61,5)
		+ 3° C	945,0 (96,1)	850,5 (86,5)	793,8 (80,7)	699,3 (71,1)	642,6 (65,3)
		-24° C	963,9 (98,0)	888,3 (90,3)	812,7 (82,6)	718,2 (73,0)	652,0 (66,3)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
20	1134,0	+20° C	1115,1 (98,3)	1039,5 (91,6)	831,6 (73,7)	756,0 (66,6)	680,4 (60,0)
		+ 3° C	1115,1 (98,3)	1077,3 (95,0)	869,4 (76,6)	793,8 (70,0)	718,2 (63,3)
		-24° C	1134,0 (100,0)	1115,1 (98,3)	888,3 (78,3)	774,9 (68,3)	699,3 (61,6)
21	1228,5	+20° C	1209,6 (98,4)	1115,1 (90,7)	945,0 (76,9)	907,2 (73,8)	737,1 (60,0)
		+ 3° C	1171,8 (95,3)	1152,9 (93,8)	982,8 (80,0)	926,1 (75,4)	756,0 (61,5)
		-24° C	1209,6 (98,4)	1209,6 (98,4)	1001,7 (81,5)	869,4 (70,7)	774,9 (63,0)
22	888,3	+20° C	850,5 (95,7)	737,1 (82,9)	699,3 (78,7)	642,6 (72,3)	529,2 (59,5)
		+ 3° C	869,4 (97,8)	756,0 (85,1)	699,3 (78,7)	661,5 (74,4)	548,1 (61,7)
		-24° C	850,5 (95,7)	774,9 (87,2)	737,1 (82,9)	680,4 (76,5)	557,0 (62,7)
23	1001,7	+20° C	926,1 (92,4)	850,5 (84,9)	812,7 (81,1)	737,1 (73,5)	604,8 (60,3)
		+ 3° C	963,9 (96,2)	888,3 (88,6)	831,6 (83,0)	756,0 (75,4)	614,2 (61,3)
		-24° C	982,8 (98,1)	907,2 (90,5)	850,5 (84,9)	774,9 (77,3)	623,7 (62,2)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
24	812,7	+20° C	774,9	737,1	661,5	623,7	587,9
			(95,3)	(90,6)	(81,3)	(76,7)	(72,3)
		+ 3° C	774,9	718,2	680,4	680,4	642,6
			(95,3)	(88,3)	(83,7)	(83,7)	(79,0)
		-24° C	793,8	756,0	718,2	680,4	642,6
			(97,6)	(93,0)	(88,3)	(83,7)	(79,0)
25	1096,2	+20° C	1020,6	982,8	907,2	850,5	661,5
			(93,1)	(89,6)	(82,7)	(77,5)	(60,3)
		+ 3° C	1058,4	1001,7	945,0	926,1	718,2
			(96,5)	(91,3)	(86,2)	(84,4)	(65,5)
		-24° C	1077,3	1039,5	982,8	907,2	737,1
			(98,2)	(94,8)	(89,6)	(82,7)	(67,2)

Ergebnisse der Bestimmungen von Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT)

Im Folgenden werden die erhobenen Befunde bei Messung der Aktivität der SGPT in Abhängigkeit von der Dauer der Aufbewahrung unter verschiedenen Temperaturbedingungen angeführt. Die Zahlenwerte in den Spalten 2 und 4 bis 8 bedeuten GPT-Einheiten/ml Serum (nach WROBLEWSKI). Die Werte in den Klammern geben die verbleibende Enzymaktivität in % des Ausgangswertes an.

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				
			9	24	48	72	168= 1 Woche
1	46,30	+20° C	43,47 (93,80)	41,58 (89,80)	37,80 (81,60)	34,02 (73,40)	30,24 (65,30)
		+ 3° C	45,36 (97,90)	43,47 (93,80)	39,69 (85,70)	35,91 (77,50)	32,13 (69,30)
		-24° C	45,36 (97,90)	39,69 (85,70)	39,69 (85,70)	37,80 (81,60)	33,07 (71,40)
2	19,84	+20° C	18,90 (95,20)	18,90 (95,20)	17,01 (85,70)	15,12 (76,20)	13,23 (66,60)
		+ 3° C	17,01 (85,70)	18,90 (95,20)	17,01 (85,70)	16,06 (80,90)	15,12 (76,20)
		-24° C	18,90 (95,20)	17,01 (85,70)	16,06 (80,90)	17,01 (85,70)	16,06 (80,90)
3	37,80	+20° C	34,96 (92,40)	32,13 (85,00)	28,35 (75,00)	28,35 (75,00)	22,68 (60,00)
		+ 3° C	35,91 (95,00)	33,07 (87,40)	32,13 (85,00)	29,29 (77,40)	22,68 (60,00)
		-24° C	36,85 (97,40)	34,96 (92,40)	34,02 (90,00)	32,13 (85,00)	28,35 (75,00)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
4	66,15	+20° C	63,31 (95,7)	58,79 (88,8)	52,92 (80,0)	51,03 (77,1)	45,36 (68,5)
		+ 3° C	64,26 (97,1)	58,79 (88,8)	54,81 (82,8)	52,92 (80,0)	49,14 (74,2)
		-24° C	60,48 (91,4)	62,37 (94,2)	60,48 (91,4)	60,48 (91,4)	49,14 (74,2)
5	99,72	+20° C	97,33 (97,6)	88,83 (89,0)	85,05 (85,2)	77,49 (77,7)	66,15 (66,3)
		+ 3° C	96,39 (96,6)	90,72 (90,9)	83,16 (83,3)	75,60 (75,8)	68,04 (68,2)
		-24° C	98,28 (98,5)	92,61 (92,8)	88,83 (89,0)	81,27 (81,4)	69,93 (70,1)
6	803,2	+20° C	756,0 (94,1)	680,4 (84,7)	642,6 (80,0)	548,1 (68,2)	491,4 (61,1)
		+ 3° C	737,1 (91,7)	699,3 (87,0)	661,5 (82,3)	587,9 (73,1)	510,3 (63,5)
		-24° C	774,9 (96,4)	718,2 (89,4)	699,3 (87,0)	604,8 (75,2)	548,1 (68,2)
7	236,2	+20° C	223,0 (94,4)	202,2 (85,6)	185,2 (78,4)	166,3 (70,0)	151,2 (64,0)
		+ 3° C	223,0 (94,4)	207,9 (88,0)	192,8 (81,6)	172,0 (72,8)	155,0 (65,6)
		-24° C	230,6 (97,6)	207,9 (88,0)	196,5 (83,2)	175,8 (74,4)	155,0 (65,6)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden 9	nach 24	Blutentnahme 48	72	168= 1 Woche
8	708,7	+20° C	661,5 (93,3)	604,8 (85,3)	557,5 (78,6)	510,3 (72,0)	434,7 (61,3)
		+ 3° C	699,3 (98,6)	614,3 (86,6)	567,0 (80,0)	538,2 (75,9)	453,6 (64,0)
		-24° C	680,4 (96,0)	623,7 (88,0)	587,9 (82,9)	529,2 (74,6)	491,4 (69,3)
9	1228,5	+20° C	1152,9 (93,8)	1020,6 (83,0)	992,2 (80,7)	945,0 (76,9)	793,8 (64,6)
		+ 3° C	1171,8 (95,3)	1058,4 (86,1)	1001,7 (81,5)	963,9 (78,4)	77,5 (63,0)
		-24° C	1190,7 (96,9)	1096,2 (89,2)	1020,6 (83,0)	982,8 (80,0)	81,3 (66,1)
10	1748,3	+20° C	1682,1 (96,2)	1455,3 (83,2)	1304,1 (74,5)	1275,8 (72,9)	1190,7 (68,1)
		+ 3° C	1701,0 (97,2)	1493,1 (85,4)	1417,5 (81,0)	1323,0 (75,6)	1228,5 (70,2)
		-24° C	1719,9 (98,3)	1512,0 (86,4)	1436,4 (82,1)	1304,1 (74,5)	1209,6 (69,1)
11	2079,0	+20° C	2041,2 (98,1)	1663,2 (80,0)	1549,8 (74,5)	1417,1 (68,1)	1379,7 (66,3)
		+ 3° C	2060,1 (99,0)	1701,0 (81,8)	1606,1 (77,2)	1474,2 (70,9)	1417,1 (68,1)
		-24° C	2041,2 (98,1)	1738,8 (83,6)	1625,4 (78,1)	1474,2 (70,9)	1436,4 (69,0)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
12	1795,5	+20° C	1701,0 (94,7)	1512,0 (84,2)	1304,1 (72,6)	1285,2 (71,5)	1152,9 (64,2)
		+ 3° C	1682,1 (93,6)	1493,1 (83,1)	1341,9 (74,7)	1341,9 (74,7)	1209,6 (67,3)
		-24° C	1738,8 (96,8)	1606,5 (89,4)	1493,1 (83,1)	1323,0 (73,6)	1134,0 (63,1)
13	28,35	+20° C	26,46 (93,3)	24,57 (86,6)	22,68 (80,0)	22,68 (80,0)	18,90 (66,6)
		+ 3° C	26,46 (93,3)	25,51 (89,9)	24,57 (86,6)	23,12 (81,5)	22,68 (80,0)
		-24° C	26,46 (93,3)	24,57 (86,6)	24,57 (86,6)	24,57 (86,6)	22,68 (80,0)
14	35,91	+20° C	34,02 (94,7)	27,40 (76,3)	26,46 (73,6)	25,51 (71,0)	20,79 (57,8)
		+ 3° C	32,13 (89,4)	32,13 (89,4)	27,40 (76,3)	24,57 (68,4)	22,68 (63,1)
		-24° C	34,02 (94,7)	32,13 (89,4)	28,35 (78,9)	26,46 (73,6)	24,57 (68,4)
15	41,58	+20° C	36,85 (88,6)	34,02 (81,8)	35,91 (86,3)	32,13 (77,2)	28,35 (68,1)
		+ 3° C	36,85 (88,6)	35,91 (86,3)	32,13 (77,2)	34,02 (81,8)	32,13 (77,2)
		-24° C	37,80 (90,9)	34,02 (81,8)	32,13 (77,2)	30,24 (72,7)	30,24 (72,7)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
16	20,79	+20° C	17,01	14,17	14,17	12,28	11,34
			(81,8)	(68,1)	(68,1)	(59,0)	(54,5)
		+ 3° C	18,90	17,01	15,12	14,17	12,28
			(90,9)	(81,8)	(72,7)	(68,1)	(59,0)
		-24° C	17,01	15,12	14,17	13,23	11,34
			(81,8)	(72,7)	(68,1)	(63,6)	(54,5)
17	18,90	+20° C	15,12	17,01	14,17	13,23	11,34
			(80,0)	(90,0)	(74,9)	(70,0)	(60,0)
		+ 3° C	17,01	15,12	15,12	14,17	13,23
			(90,0)	(80,0)	(80,0)	(74,9)	(70,0)
		-24° C	15,12	15,12	14,17	13,23	13,23
			(80,0)	(80,0)	(74,9)	(70,0)	(70,0)
18	137,9	+20° C	128,5	115,3	111,5	98,28	86,94
			(93,1)	(83,5)	(80,8)	(71,2)	(63,0)
		+ 3° C	132,3	117,2	112,5	100,2	88,83
			(95,8)	(84,9)	(81,5)	(72,6)	(64,3)
		-24° C	134,2	119,1	113,4	102,1	90,72
			(97,2)	(86,3)	(82,1)	(73,9)	(65,7)
19	162,5	+20° C	155,0	141,8	124,7	111,5	105,8
			(95,3)	(87,2)	(76,7)	(68,6)	(65,1)
		+ 3° C	156,9	136,1	128,5	115,3	109,6
			(96,5)	(83,7)	(79,0)	(70,9)	(67,4)
		-24° C	161,1	139,9	128,5	119,1	111,5
			(99,1)	(86,0)	(79,0)	(73,2)	(68,6)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden 9	nach 24	Blutentnahme 48	72	168= 1 Woche
20	102,1	+20° C	97,33 (95,3)	94,50 (92,5)	86,94 (85,1)	75,60 (74,0)	66,15 (64,8)
		+ 3° C	99,22 (97,2)	98,28 (96,2)	90,72 (88,8)	79,38 (77,7)	71,82 (70,3)
		-24° C	100,2 (98,1)	92,61 (90,7)	88,83 (87,0)	81,27 (79,6)	62,37 (61,1)
21	283,5	+20° C	275,9 (97,3)	249,5 (88,0)	226,8 (80,0)	200,3 (70,6)	187,1 (66,0)
		+ 3° C	279,7 (98,6)	253,3 (89,3)	230,6 (81,3)	223,0 (78,6)	189,0 (66,6)
		-24° C	279,7 (98,6)	257,0 (90,6)	249,5 (88,0)	226,8 (80,0)	196,6 (69,3)
22	177,7	+20° C	166,3 (93,6)	149,3 (84,0)	147,4 (82,9)	124,7 (70,2)	105,8 (59,5)
		+ 3° C	170,1 (95,7)	155,0 (87,2)	149,3 (84,0)	128,5 (72,3)	109,6 (61,7)
		-24° C	173,9 (97,8)	153,1 (86,1)	151,2 (85,1)	132,3 (74,4)	109,6 (61,7)
23	156,9	+20° C	147,4 (93,9)	138,0 (87,9)	126,6 (80,7)	126,6 (80,7)	98,28 (62,6)
		+ 3° C	149,3 (95,1)	151,2 (96,3)	132,3 (84,3)	124,7 (79,5)	100,2 (63,8)
		-24° C	156,9 (100,0)	153,1 (97,5)	156,9 (100,0)	134,2 (85,5)	104,0 (66,2)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
24	2646,0	+20° C	2494,8 (94,2)	2192,4 (82,8)	2041,2 (77,1)	1852,2 (70,0)	1568,7 (59,2)
		+ 3° C	2570,4 (97,1)	2268,0 (85,7)	2192,4 (82,8)	2003,4 (75,7)	1606,5 (60,7)
		-24° C	2608,2 (98,5)	2343,6 (88,5)	2230,2 (84,2)	2041,2 (77,1)	1587,6 (60,0)
25	2003,4	+20° C	1852,2 (92,4)	1738,8 (86,7)	1587,6 (79,2)	1436,4 (71,6)	1285,2 (64,1)
		+ 3° C	1927,8 (96,2)	1776,6 (88,6)	1663,2 (83,0)	1512,0 (75,4)	1266,3 (63,2)
		-24° C	1965,6 (98,1)	1776,6 (88,6)	1701,0 (84,9)	1549,8 (77,3)	1304,1 (65,0)

5. Ergebnisse der Bestimmungen von alkalischer Phosphatase im Serum

Im Folgenden werden die erhobenen Befunde bei Messung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum in Abhängigkeit von der Dauer der Aufbewahrung unter verschiedenen Temperaturbedingungen angeführt. Die Zahlenwerte in den Spalten 2 und 4 bis 8 bedeuten mMol-Einheiten alkalische Phosphatase (nach BESSEY-LOWRY). Die Werte in den Klammern geben die verbleibende Enzymaktivität in % des Ausgangswertes an.

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach		Blutentnahme		168= 1 Woche
			9	24	48	72	
1	16,98	+20° C	16,98 (100,0)	16,32 (96,10)	16,68 (98,20)	15,78 (92,90)	14,94 (87,90)
		+ 3° C	16,98 (100,0)	16,80 (99,50)	16,80 (99,50)	16,68 (98,20)	15,60 (91,80)
		-24° C	16,98 (100,0)	16,80 (98,90)	16,80 (98,90)	16,80 (98,90)	16,26 (95,70)
2	21,96	+20° C	21,72 (99,80)	21,72 (99,80)	21,30 (97,90)	21,30 (97,90)	18,48 (84,10)
		+ 3° C	21,96 (100,0)	21,96 (100,0)	21,72 (98,90)	21,72 (98,90)	21,48 (97,80)
		-24° C	21,72 (98,90)	21,72 (98,90)	21,72 (98,90)	20,64 (93,90)	20,40 (92,80)
3	12,24	+20° C	12,24 (100,0)	12,12 (99,00)	12,00 (98,00)	10,68 (87,20)	9,90 (80,80)
		+ 3° C	12,12 (99,00)	12,24 (100,0)	12,00 (98,00)	11,64 (95,00)	11,76 (96,00)
		-24° C	12,24 (100,0)	12,00 (98,00)	12,00 (98,00)	11,64 (95,00)	10,74 (87,70)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach Blutentnahme				168= 1 Woche
			9	24	48	72	
4	15,84	+20° C	15,54 (98,1)	15,54 (98,1)	14,58 (92,0)	15,18 (95,8)	14,10 (89,0)
		+ 3° C	15,66 (98,8)	15,36 (97,0)	15,66 (98,8)	14,88 (94,5)	14,58 (92,0)
		-24° C	15,54 (98,1)	15,54 (98,1)	15,54 (98,1)	15,54 (98,1)	14,88 (93,9)
5	7,38	+20° C	7,20 (97,5)	7,02 (95,1)	7,20 (97,5)	7,08 (95,9)	6,42 (86,9)
		+ 3° C	7,38 (100,0)	7,20 (97,5)	7,20 (97,5)	6,72 (91,0)	6,54 (88,6)
		-24° C	7,32 (99,1)	7,38 (100,0)	7,32 (99,1)	7,14 (96,7)	7,02 (95,1)
6	8,46	+20° C	8,16 (96,4)	8,34 (98,5)	8,34 (98,5)	8,04 (95,0)	7,02 (82,9)
		+ 3° C	8,46 (100,0)	8,28 (97,8)	8,34 (98,5)	8,34 (98,5)	7,74 (91,4)
		-24° C	8,46 (100,0)	8,46 (100,0)	8,34 (98,5)	8,16 (96,4)	7,62 (90,0)
7	6,54	+20° C	6,54 (100,0)	6,48 (99,0)	6,42 (98,1)	6,18 (94,4)	5,46 (83,4)
		+ 3° C	6,54 (100,0)	6,54 (100,0)	6,18 (94,4)	6,36 (97,2)	6,12 (93,5)
		-24° C	6,54 (100,0)	6,54 (100,0)	6,48 (99,0)	6,48 (99,0)	6,12 (93,5)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ver- such Nr.	Aus- gangs- wert	aufbe- wahrt bei	Stunden nach		Blutentnahme		168= 1 Woche
			9	24	48	72	
8	8,16	+20° C	8,16	8,04	7,68	7,80	6,54
			(100,0)	(98,5)	(94,1)	(95,5)	(80,1)
		+ 3° C	8,04	8,04	7,80	7,92	7,74
			(98,5)	(98,5)	(95,5)	(97,0)	(94,8)
		-24° C	7,92	7,92	7,74	7,68	7,56
			(97,0)	(97,0)	(94,8)	(94,1)	(92,6)
9	6,36	+20° C	6,30	6,24	6,30	5,64	5,22
			(99,0)	(98,1)	(99,0)	(88,6)	(82,0)
		+ 3° C	6,36	6,36	6,30	5,94	5,70
			(100,0)	(100,0)	(99,0)	(93,3)	(89,6)
		-24° C	6,24	6,36	6,06	5,76	5,40
			(98,1)	(100,0)	(95,2)	(90,5)	(84,9)

Ergebnisse der Bestimmungen von 1,6-Diphospho-Fruct-
Aldolase im Liquor cerebrospinalis

Im Folgenden werden die erhobenen Befunde bei Messung der Aktivität der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis in Abhängigkeit von der Dauer der Aufbewahrung bei + 3° C im Kühlschrank angeführt.

1	2	3	4
Ver- such Nr.	Zeit nach Blutent- nahme	Einheiten/ ml nach Bruns	verbleibende Enzym- aktivität in % des Ausgangswertes
1	3 Stunden	5,76	100,0
	9 "	5,37	93,2
	24 "	5,37	93,2
	48 "	4,99	86,6
	72 "	4,99	86,6
	1 Woche	4,61	80,0
	2 Wochen	3,84	66,6
2	3 Stunden	3,84	100,0
	9 "	3,45	89,8
	24 "	3,45	89,8
	48 "	3,07	79,9
	72 "	2,69	70,0
	1 Woche	2,69	70,0
	2 Wochen	2,30	59,8
3	3 Stunden	4,22	100,0
	9 "	4,22	100,0
	24 "	3,45	81,7
	48 "	3,45	81,7
	72 "	3,45	81,7
	1 Woche	3,07	72,7
	2 Wochen	2,69	63,7

1	2	3	4
Ver- such Nr.	Zeit nach Blutent- nahme	Einheiten/ ml nach Bruns	verbleibende Enzym- aktivität in % des Ausgangswertes
4	3 Stunden	6,14	100,0
	9 "	5,76	93,8
	24 "	5,37	87,4
	48 "	5,37	87,4
	72 "	4,22	68,7
	1 Woche	4,22	68,7
	2 Wochen	3,84	62,5
5	3 Stunden	6,14	100,0
	9 "	5,76	93,8
	24 "	5,76	93,8
	48 "	5,76	93,8
	72 "	4,99	81,1
	1 Woche	4,99	81,1
	2 Wochen	4,22	68,7
6	3 Stunden	9,21	100,0
	9 "	8,44	91,6
	24 "	8,06	87,5
	48 "	6,91	75,0
	72 "	7,29	79,2
	1 Woche	6,52	70,7
	2 Wochen	5,37	58,3

1 Ver- such Nr.	2 Zeit nach Blutent- nahme	3 Einheiten/ ml nach Bruns	4 verbleibende Enzym- aktivität in % des Ausgangswertes
7	3 Stunden	8,44	100,0
	9 "	7,68	90,9
	24 "	8,06	95,4
	48 "	7,68	90,9
	72 "	7,29	86,3
	1 Woche	6,91	81,3
	2 Wochen	6,14	72,7
8	3 Stunden	4,61	100,0
	9 "	4,22	91,5
	24 "	4,22	91,5
	48 "	4,22	91,5
	72 "	3,45	74,8
	1 Woche	3,07	66,5
	2 Wochen	2,69	58,3
9	3 Stunden	3,45	100,0
	9 "	3,07	88,9
	24 "	3,07	88,9
	48 "	2,69	77,9
	72 "	2,69	77,9
	1 Woche	2,69	77,9
	2 Wochen	1,92	55,6

Zur Veranschaulichung der Ergebnisse wurden graphische Darstellungen angefertigt, die das Aktivitätsverhalten der Enzyme bei $+20^{\circ}\text{C}$, $+3^{\circ}\text{C}$ und bei -24°C zeigen. Die Kurven entsprechen in ihrem Verlauf den Mittelwerten der Ergebnisse.

Mittelwerte

Aldolase

3 Stunden	100 %	48 Stunden	84,9 %
9 "	92,6 %	72 "	78,4 %
24 "	89,9 %	1 Woche	74,3 %
		2 Wochen	62,9 %

SGOT

$+20^{\circ}\text{C}$		$+3^{\circ}\text{C}$		-24°C	
3 Stunden	100 %	3 Stunden	100 %	3 Stunden	100 %
9 "	94,5 %	9 "	95,4 %	9 "	97,6 %
24 "	86,6 %	24 "	88,8 %	24 "	90,4 %
48 "	77,7 %	48 "	83,0 %	48 "	85,1 %
72 "	71,7 %	72 "	76,2 %	72 "	77,0 %
1 Woche	61,6 %	1 Woche	65,4 %	1 Woche	67,8 %

SGPT

$+20^{\circ}\text{C}$		$+3^{\circ}\text{C}$		-24°C	
3 Stunden	100 %	3 Stunden	100 %	3 Stunden	100 %
9 "	93,1 %	9 "	94,6 %	9 "	95,5 %
24 "	85,1 %	24 "	87,7 %	24 "	87,5 %
48 "	78,8 %	48 "	81,5 %	48 "	83,6 %
72 "	72,5 %	72 "	75,6 %	72 "	77,4 %
1 Woche	63,5 %	1 Woche	67,0 %	1 Woche	68,2 %

Alkalische Phosphatase

$+20^{\circ}\text{C}$		$+3^{\circ}\text{C}$		-24°C	
3 Stunden	100 %	3 Stunden	100 %	3 Stunden	100 %
9 "	98,9 %	9 "	99,5 %	9 "	99,0 %
24 "	98,0 %	24 "	98,9 %	24 "	98,9 %
48 "	97,0 %	48 "	97,7 %	48 "	97,8 %
72 "	93,6 %	72 "	95,9 %	72 "	95,8 %
1 Woche	84,1 %	1 Woche	92,8 %	1 Woche	91,8 %

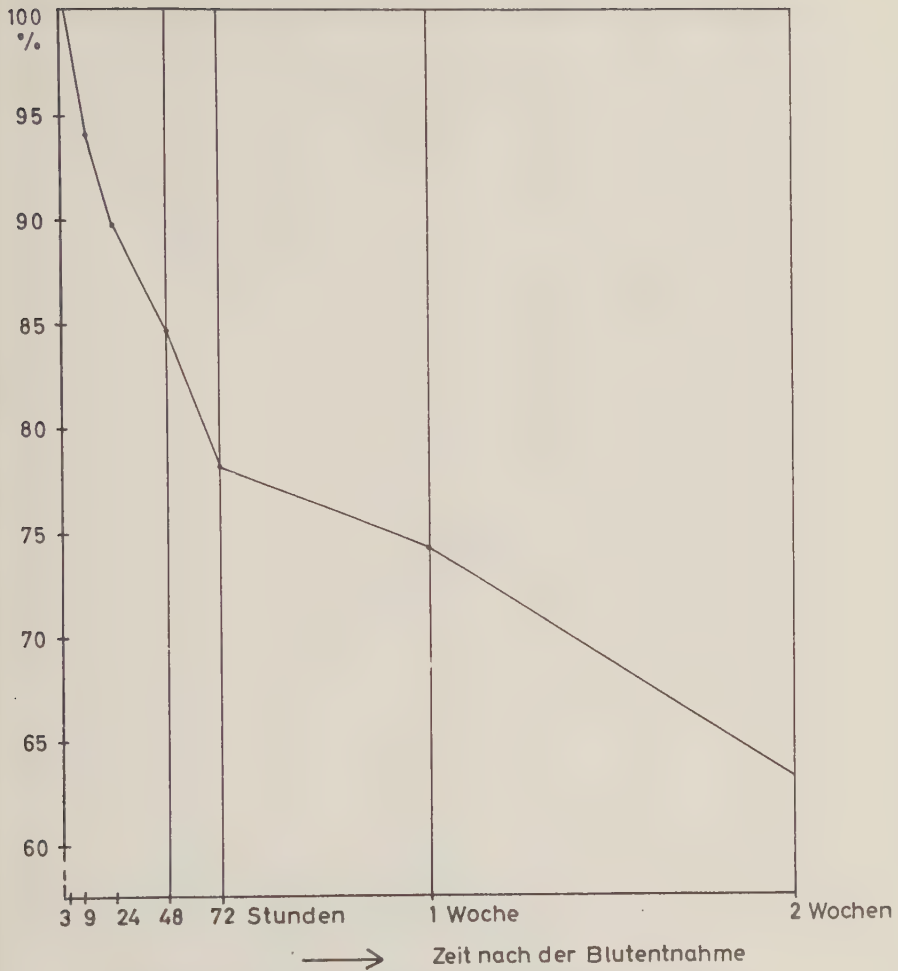


Abb.1 Das Aktivitätsverhalten der 1,6 Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor Cerebrospinalis bei +3°C

mittlere quadratische Abweichung der Mittelwerte

9 Std.	1,12 %
24 "	1,45 %
48 "	2,44 %
72 "	2,56 %
1 Woche	2,47 %
2 Wochen	2,78 %

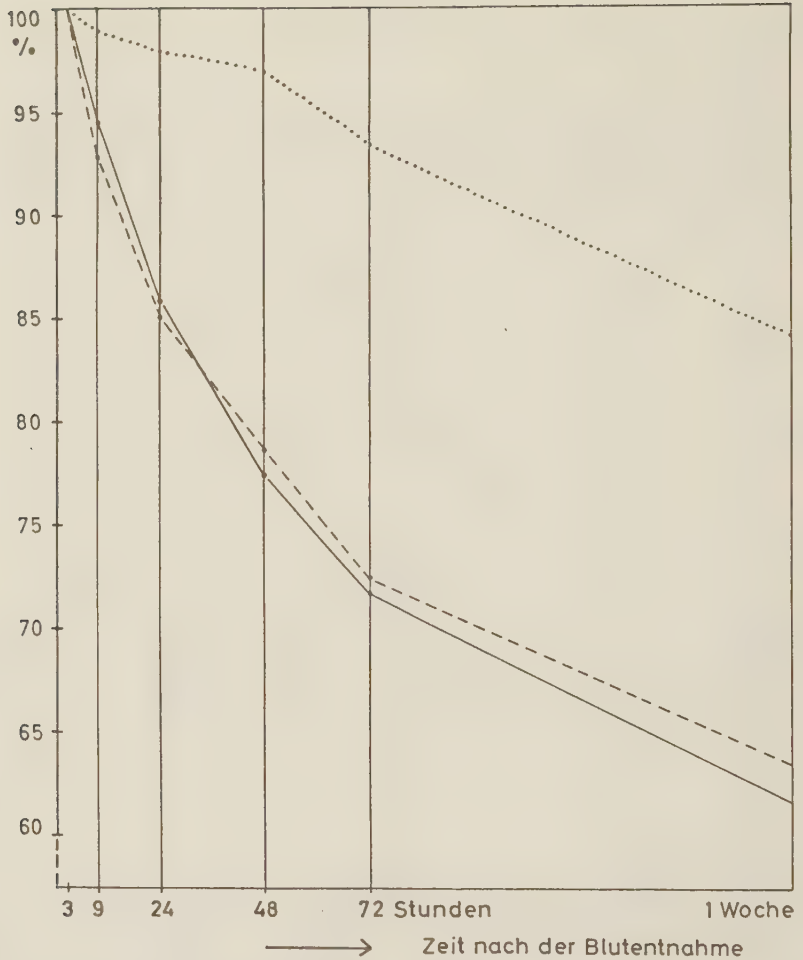


Abb. 2 Das Aktivitätsverhalten einiger Serumenzyme (SGOT—, SGPT---, Alkalische Phosphatase.....) Bei +20° C

mittlere quadratische Abweichung der Mittelwerte bei +20° C

SGOT	SGPT	alk. Phosphate
9 Std. 0,73%	9 Std. 0,88 %	9 Std. 0,42%
24 " 0,78%	24 " 0,12 %	24 " 0,47%
48 " 1,06%	48 " 1,10 %	48 " 0,76%
72 " 1,04%	72 " 1,24 %	72 " 1,18 %
1 Woche 1,21%	1Woche 1,21 %	1Woche 1,17 %

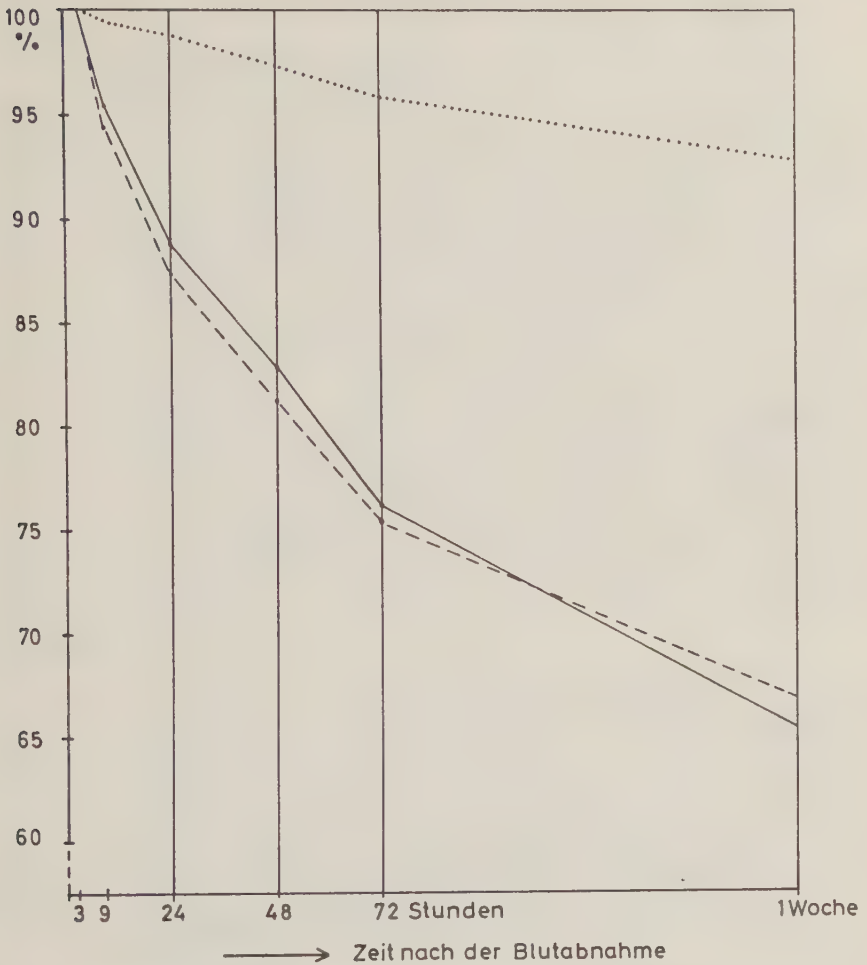


Abb. 3 Das Aktivitätsverhalten einiger Serumenzyme (SGOT—, SGPT ---, alkalische Phosphatase)
Bei +3°C

mittlere quadratische Abweichung bei +3°C

SGOT	SGPT	alk. Phosphate
9 Std. 0,77%	9 Std. 0,61 %	9 Std. 0,20 %
24 " 0,98%	24 " 0,96 %	24 " 0,38 %
48 " 1,20%	48 " 0,89 %	48 " 0,56 %
72 " 1,41%	72 " 0,97 %	72 " 0,87 %
1 Woche 1,94%	1 Woche 1,58 %	1 Woche 1,00 %

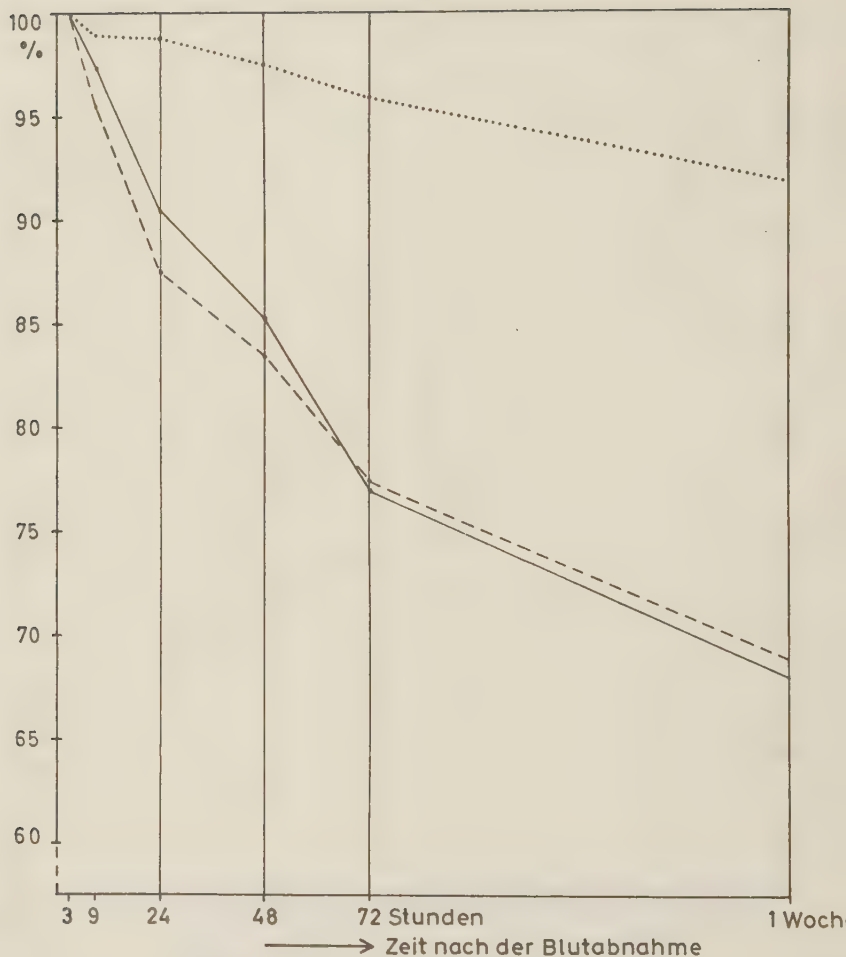


Abb. 4 Das Aktivitätsverhalten einiger Serumzyme (SGOT —, SGPT ---, alkalische Phosphatase Bei -24°C

mittlere quadratische Abweichung bei -24°C)

SGOT	SGPT	alk. Phosphate
9 Std. 0,36%	9 Std. 1,00 %	9 Std. 0,34 %
24 " 1,11%	24 " 1,08 %	24 " 0,35%
48 " 1,39%	48 " 1,43 %	48 " 0,53%
72 " 1,25%	72 " 1,57 %	72 " 0,90%
1Woche 2,56%	1Woche 1,68 %	1Woche 1,22%

C. Erörterung der Befunde

Die vorgelegten Befunde zeigen, daß ein Aktivitätsverlust der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase und der alkalischen Phosphatase im Serum sowie der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis auch durch Aufbewahren der Proben in der Kälte ($+ 3^{\circ}\text{C}$ und $- 24^{\circ}\text{C}$) nicht völlig zu vermeiden ist. Damit ist erwiesen, daß der Temperatureinfluß allein nicht den Verlust der Enzymaktivitäten bedingt. Dieser scheint sogar eine geringere Rolle bei diesem Prozeß zu spielen als ihm gemeinhin (SUEDHOF u. WOETZEL; BERGMAYER) zugeschrieben wird. Andernfalls wäre ein deutlicherer Unterschied im Aktivitätsverhalten der bei Zimmertemperatur und der im Kühlschrank oder in der Tiefkühltruhe aufbewahrten Proben zu erwarten, da der Temperaturunterschied bis zu 44°C ($+ 20^{\circ}\text{C}$ bis $- 24^{\circ}\text{C}$) beträgt.

Bereits eine Woche nach der Blutentnahme wurden trotz sterilen Verschlusses in einigen Serumproben, nicht nur bei Zimmertemperatur sondern auch bei Aufbewahrung im Kühlschrank, makroskopische Zeichen eines Keimbefalles (Trübung und Schlierenbildung im Serum) sichtbar. Bei der bakteriologischen Untersuchung von Einzelproben konnten jedoch lediglich Pilze angezüchtet werden. Immerhin erscheint es möglich, daß eine Verunreinigung durch Pilze oder Bakterien bereits im kleinen Ausmaß etwa durch Bakterienfermente die Aktivität der nachzuweisenden Enzyme beeinflußt.

Eine Empfindlichkeit gegenüber dem Einfrieren, etwa in Form einer Inaktivierung beim Auftauen, wie von SUEDHOF et al. angenommen wurde, scheint bei der alkalischen Phosphatase im Serum vorzuliegen. Die Aktivität der Proben, die bei $- 24^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt wurden, liegt nach 9 Stunden, 72 Stunden und 1 Woche durchschnittlich unter der Aktivität derer, die im Kühlschrank ($+ 3^{\circ}\text{C}$) aufbe-

wahrt wurden. Bei dem nur geringfügigen Unterschied läßt die große Fehlerbreite der Messungen eine gültige Aussage nicht zu.

Bemerkenswert in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, daß wir eine im möglichen Widerspruch zur oben erwähnten Auffassung stehende "Steigerung" der Enzymaktivität nach dem Einfrieren von Serumproben, wie das von RICHTERICH (1958) mitgeteilt wurde, in unseren verhältnismäßig großen Versuchsreihen nicht beobachten konnten. Bei den "Ausnahmen", die in regelloser Verteilung auch bei den in Zimmer- und Kühlschranktemperatur aufbewahrten Proben zu finden sind, handelt es sich sicher um die Auswirkung der beträchtlichen Streubreite der Messungen.

Es wurde die Frage untersucht, ob im Serum akut erkrankter Patienten mit hohem Aktivitätsgehalt die Enzyme eine größere Stabilität besitzen als im Serum solcher Patienten, die schon länger krank waren und niedere Aktivitäten aufwiesen. Diese Vermutung stützte sich auf die Annahme von RICHTERICH, daß Enzyme einem "Alterungsvorgang" mit Verlust der Enzymaktivität unterworfen sind. Soeben ins Blut übergetretene Enzyme, wie wir sie hauptsächlich im Serum von akut erkrankten Patienten mit hohen Enzymaktivitäten finden, können noch nicht in dem Maße dem von RICHTERICH beschriebenen Alterungsprozeß unterworfen sein wie Enzyme im Serum bereits seit längerer Zeit kranker Patienten mit niederen Enzymaktivitäten. Sie sollten daher erwartungsgemäß gegenüber exogenen Einflüssen, die den Aktivitätsverlust beschleunigen, resistenter sein. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen mit der alkalischen Phosphatase im Serum und der Aldolase im Liquor cerebrosppinalis scheinen für ein solches Verhalten zu sprechen. Das zeigt eine Gegenüberstellung der Versuche 1 - 4 und 5 - 9 mit der alkalischen Phosphatase und der Versuche 1, 2, 3, 8, 9 und 4, 5, 6, 7 mit der Aldolase.

Uns erscheint eine andere Interpretation dieser Befunde wahrscheinlicher, und zwar deshalb, weil gerade

beim Vergleich des Aktivitätsverhaltens der Transaminasen im Serum die Proben mit extrem erhöhter, mittlerer und normaler Enzymaktivität keine Unterschiede aufweisen.

Die Forschungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß im menschlichen Serum mehrere Enzyme vorkommen ("Isoenzyme"), die, aus verschiedenen Organen stammend, in Enzym-Spezies unterteilt werden können (RICHTERICH 1965). Nach den Berichten von POSEN et al. (1965) besitzen die einzelnen Spezies der alkalischen Phosphatase im Serum eine voneinander deutlich abweichende Empfindlichkeit gegenüber Erwärmung auf 56°C , so daß auf diese Weise die alkalische Phosphatase differenziert werden kann. Es ist bekannt, daß auch die Transaminasen und die Aldolase aus verschiedenen Organen ins Blut gelangen können. Es ist also möglich, daß auch bei diesen Enzymen, abhängig davon welchen Organen sie entstammen, eine unterschiedliche Resistenz gegenüber Temperaturveränderungen besteht.

Nach den Befunden von POSEN et al. (1965) weist die hepatogene alkalische Phosphatase eine größere Stabilität gegenüber höheren Temperaturen auf als die alkalische Phosphatase ossären Ursprungs. Im Normalserum stammen 40 - 60 % der zirkulierenden alkalischen Phosphatase aus dem Knochen (SCHLAMOWITZ u. BODAMSKY, 1959). Je höher der Anteil an hepatogener alkalischer Phosphatase (etwa bei Lebererkrankungen) wird, desto geringere Aktivitätsverluste finden sich bei Erwärmung.

Es ist zu erwägen, daß auch Veränderungen im Bereich niedrigerer Temperaturen - wie bei unseren Untersuchungen - zu einem entsprechenden, unterschiedlichen Aktivitätsverhalten im Serum von Gesunden und Kranken führen, und die unterschiedlichen Ergebnisse des Aktivitätsschwundes der untersuchten Enzyme nach Aufbewahrung bei $+20^{\circ}\text{C}$, $+3^{\circ}\text{C}$ und -24°C in unseren Untersuchungen und denen von SUEDHOF und WOETZEL durch eine unterschiedliche Zusammensetzung an Isoenzymen im Serum bedingt sind.

Das Fehlen eindeutigerer Ergebnisse ist möglicherweise u.a. darauf zurückzuführen, daß bei der thermischen Differenzierung durch Hitzeinaktivierung (POSEN et al., 1965) von Isoenzymen konstantere Bedingungen gegeben sind.

Da bisher keinerlei Untersuchungen vorliegen, ob sich Isoenzyme durch Aufbewahrung bei den genannten tieferen Temperaturen verschieden verhalten, ist eine theoretische Erörterung dieser Frage wenig sinnvoll, solange nicht durch weitere experimentelle Untersuchungen die Faktoren analysiert werden, die die Geschwindigkeit der Inaktivierung von Enzymen im Serum bestimmen. Derartige Versuche erscheinen für eine verbindliche Stellungnahme, wie lange und unter welchen Temperaturbedingungen Serumproben zur Bestimmung von Enzymaktivitäten aufbewahrt werden können, dringend geboten.

D. Zusammenfassung

Untersucht wurde die Temperaturabhängigkeit der Aktivität von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und der alkalischen Phosphatase im Serum sowie der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis. Zur Auswertung kamen je 25 Proben für die Bestimmung der Transaminaseaktivitäten und je 9 Proben für die Bestimmung der alkalischen Phosphatase im Serum und der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis.

Die Ergebnisse der Doppelbestimmungen zeigen, daß alle untersuchten Enzyme im Serum und Liquor einen Aktivitätsverlust in vitro bei längerer Aufbewahrung erleiden. Der Verlust erreicht bei den Transaminasen nach einer Woche durchschnittlich 36,5 % (SGPT) bis 38,5 % (SGOT) bei Zimmertemperatur. Aufbewahrung in der Kälte bei + 3° C und - 24° C vermag den Aktivitätsverlust nicht wesentlich aufzuhalten. Die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum ergab, daß der Verlust bei + 3° C und - 24° C nach einer Woche 10 % nicht überschreitet, bei Zimmertemperatur beträgt der Verlust kaum mehr als 15 %. Die Aktivität der 1,6-Diphospho-Fruct-Aldolase im Liquor cerebrospinalis fällt nach 2 Wochen bis auf 63 % des Ausgangswertes bei Aufbewahrung im Kühlschrank (+ 3° C) ab.

Die erhobenen Befunde wurden im Zusammenhang mit bisherigen Ergebnissen einzelner anderweitiger Untersuchungen erörtert, wobei die unterschiedlichen Ergebnisse möglicherweise durch einen verschiedenen Gehalt der Serumproben an Isoenzymen bedingt sind.

9. Bruns, F. H.,
Puls, W. Die Aktivität der Serumaldolase
bei Erkrankungen der Leber.
Ein neuer enzymatischer Test
Klin. Wschr. 32, 656 (1954)
10. Chinsky, M.,
Shmergranoff, G. L.,
Sherry, S. Serum Transaminase Activity
J. Lab. Med. 47, 108 (1956)
11. LaDue, J. S.,
Wroblewski, F. Significance of the Serum Glutamic
Oxalacetic Transaminase Activity
following Acute Myocardial
Infarction
Circulation 11, 871 (1955)
12. La Due, J. S.,
Wroblewski, F.,
Karmen, A. Serum Glutamic Oxalacetic
Transaminase Activity in
Human Acute Transmural
Myocardial Infarction
Science 120, 497 (1954).
13. Freudenberg, K. Grundriss der medizinischen
Statistik
F.-K. Schattauer, Stuttgart (1963)
14. Göggel, K. H. Über die Fermentdiagnostik
und ihre klinische Bedeutung
Med. Klin. 21, 933 (1958)
15. Gomori, G. Methods for quantitative estimation
of hydrolytic enzymes in serum
and other biologic fluids
Amer. J. clin. Path. 24, 99 (1954)

16. Hauss, W. H.,
Leppelmann, H. J.,
Plänitz, H. Über Schwankungen von Ferment-
aktivitäten in der Leber bei
experimentellen Eingriffen und
bei Infektionskrankheiten
Klin. Wschr. 35, 957 (1957)
17. Hauss, W. H.,
Gerlach, U.,
Schürmeyer, E. Über die Pathogenese und die
klinische Bedeutung der
Hyperfermentämie
Dtsch. med. Wschr. 83, 1310 (1958)
18. Henley, K. S.,
Pollard, H. M. A New Method for the Determination
of Glutamic Oxalacetic and Glutamic
Pyruvic Transaminase in Plasma
J. Lab. clin. Med. (St. Louis)
46, 785 (1955)
19. Horn, H. D.,
Amelung, D. Die Bedeutung von Transaminasen-
und Milchsäuredehydrogenase-
Bestimmungen im Serum bei
Lebererkrankungen
Dtsch. med. Wschr. 82, 619 (1957)
20. Karmen, A.,
Wroblewski, F.,
LaDue, J. S. Transaminase Activity in Human Blood
J. clin. Invest. 34, 126 (1955)
21. Kirberger, E.,
Martini, G. A. Bestimmungsmethoden und klinische
Auswertung der Phosphataseaktivi-
tät im Blut
Dtsch. Arch. klin. Med.
197, 268 (1950)
22. Klein, H. G. Routinemässige Fermentdiagnostik
Wien. med. Wschr. 109, 179 (1959)

23. Laudahn, G. Moderne Enzymdiagnostik in der
Klinik. Normalwerte und typische
Wertrelationen bei Leberkrank-
heiten und akutem Herzinfarkt
Therapie des Monats (Mannheim)
10, 190 (1960)
24. Leuthardt, F. Lehrbuch der physiologischen
Chemie
W. de Gruyter u. Co., Berlin 1959
25. Loll, H., Änderung der Substratkonzentration
Hilscher, A. und der Enzymaktivität im Serum
durch körperliche Belastung
Ärztl. Forsch. 12, 1185 (1958)
26. Mc Master, Y., The Mechanism of the Elevation
Tennant, R., of Serum Alkaline Phosphatase
Clubb, J. S., in Pregnancy
Neale, F. C., J. Obstet. Brit. Comm.
Posen, S. 71, 735 (1964)
27. Müller-Seifert- Taschenbuch der medizinisch-
v.Kress klinischen Diagnostik
J. F. Bergmann, München (1962)
28. Nicola, P., Les Transaminases dans les
Tartara, A., affections coronarienes.
Candura, F. Revision critique et expérimentale
Schweiz. med. Wschr. 1145 (1956)
29. Polin, S. G., The Origin of Elevation of
Spellberg, M. A., Serum Alkaline Phosphatase
Teitelman, L., in Hepatic Disease
Okumura, M. Gastroenterology 42, 431 (1962)

30. Posen, S.,
Neale, F. C.,
Clubb, J. S. Heat Inactivation in the Study
of Human Alkaline Phosphatases
Ann. intern. Med. 62, 1234 (1965)
31. Richterich, R. Enzymopathologie, Enzyme in
Klinik und Forschung
F. Springer, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1958
32. Richterich, R. Klinische Chemie - Theorie
und Praxis
S. Karger, Basel (Schweiz)/
New York 1965
33. de Ritis, F.,
Coltorti, M.,
Giusti, G. An Enzymatic Test for the
Diagnosis of Viral Hepatitis:
the Transaminase Serum Activities
Clin. chim. Acta (Amsterdam)
2, 70 (1957)
34. Schlamowitz, M.,
Bodansky, O. Tissue Sources of Human Serum
Alkaline Phosphatase as
determined by
Immunochemical Procedures
J. Biol. Chem. 234, 1433 (1959)
35. Sibley, J. A.,
Fleisher, G. A. The Clinical Significance
of Serum Aldolase
Proc. Staff Meet. Mayo Clin.
29, 591 (1954)
36. Simmer, H. Die sogenannte alkalische
Serumphosphatase
Dtsch. med. Wschr. 81, 2108 (1956)

37. Südhof, H.,
Wötzel, E. Über die Haltbarkeit von zur
Enzymaktivitätsbestimmung
vorgesehener Serumproben
Klin. Wschr. 38, 1165 (1960)
38. Südhof, H.,
Steindorff, H.,
Götze, Ch.,
Voss, I.,
Löhr, H. Zur Bestimmung der alkalischen
und sauren Phosphatase im Serum.
Besonderheiten und Problematik
der verschiedenen Methoden
sowie Vergleichsmöglichkeit
der gewonnenen Analysendaten
Dtsch. med. Wschr. 87, 249 (1962)
39. Strumia, M. M.,
Mc Graw, J. J., J. R.,
Heggstad, G. E. Preservation of dried and
frozen plasma over
10-year period
Amer. J. clin. Path.
22, 313 (1952)
40. Walford, R. L.,
Sowa, M.,
Daley, D. Stability of protein, enzyme,
and nonprotein constituents
of stored frozen plasma;
use in standardization and
control of chemical procedures
Amer. J. clin. Path.
26, 376 (1956)
41. West, A.,
Zimmermann, H. J. Serum Enzymes in Hepatic Disease
Med. Clin. North. Amer.
43, 371 (1959)
42. Wötzel, E. Über die Haltbarkeit von zur
Enzymaktivitätsbestimmung
vorgesehener Serumproben
Med. Diss. Göttingen, 1960

43. Wroblewski, F.,
LaDue, J. S. Serum Glutamic Oxalacetic
Transaminase Activity
as an Index of Liver Cell
Injury: a Preliminary Report
Ann. intern. Med.
43, 345 (1955)
44. Wroblewski, F.,
LaDue, J. S. Serum Glutamic Pyruvic
Transaminase (SGPT)
in Hepatic Disease:
a Preliminary Report
Ann. intern. Med.
45, 801 (1956)
45. Wroblewski, F.,
LaDue, J. S. Serum Glutamic Pyruvic
Transaminase in Cardiac
and Hepatic Disease
Proc. Soc. exp. Biol., New York
91, 569 (1956)
46. Wroblewski, F. Serum Glutamic Oxalacetic
Aminopherase (Transaminase)
in Hepatitis
J. Amer. Ass. 160, 1130 (1956)

Lebenslauf

Als Sohn des Kaufmannes Willy Leder wurde ich, Dietrich-Eckhard Leder, am 28. Oktober 1940 in Berlin geboren. Nach der Grundschulzeit besuchte ich die Leibniz-Schule, eine Oberschule Wissenschaftlichen Zweiges (Neusprachliches Gymnasium), und legte dort am 24. Februar 1959 die Reifeprüfung ab. Am 14. April desselben Jahres wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. An derselben Universität legte ich am 27. Oktober 1965 die ärztliche Prüfung ab.

